



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y**  
**BIOQUÍMICA**

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CUANTIFICACIÓN**  
**DE POLIFENOLES DE LAS HOJAS DE *Ricinus***  
***communis* L. (HIGUERRILLA)**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL**  
**GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN**  
**FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**AUTORA**

**BULNES MARTINEZ, YESSICA KARINA**

**ORCID: 0000-0001-8883-3418**

**ASESOR**

**LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO**  
**0000-0003-4125-3381**

**ORCID:**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2019**

## **EQUIPO DE TRABAJO**

### **AUTOR**

Bulnes Martínez, Yessica Karina

ORCID: 0000-0001-8883-3418

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Estudiante de  
pregrado Trujillo, Perú.

### **ASESOR**

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias  
de la Salud. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo,  
Perú.

### **JURADO**

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID: 0000-0002-6374-8732

# **JURADO EVALUADOR DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

**Presidente**

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

**Miembro**

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

**Miembro**

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

**Docente Tutor Investigador**

## AGRADECIMIENTO

*Agradezco a Dios siempre por darme un día más de vida y por bendecirme en cada paso que doy, por darme esa fortaleza para continuar y poder cumplir mis sueños.*

*A mi madre por apoyarme en todo momento animándome y aconsejándome, por el sacrificio constante en darme lo mejor para mi futuro, por inculcarme valores, por estar pendientes de todo el proceso de mi carrera por su amor incondicional.*

*A la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote por darnos la oportunidad de poder desarrollarnos como futuros profesionales, por brindarnos una mejor infraestructura y equipamiento moderno dándonos las facilidades para realizar los trabajos de investigación.*

*A la Mgtr. Liz Elva Zevallos Escobar por brindarme su apoyo durante este proceso, por compartir sus conocimientos a través de diversas lecciones y experiencias aclarando cualquier tipo de duda, por todo el tiempo dedicado para guiarme en mi formación como investigador.*

*Al Dr. Édison Vásquez Corales, por el apoyo desinteresado para poder ejecutar el proceso práctico del presente trabajo de investigación, por el tiempo y la paciencia dedicada en cada uno de sus enseñanzas.*

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS:**

*Por la vida y la salud que me brinda, por el inmenso amor y la fortaleza que me concede para poder alcanzar cada uno de mis sueños.*

### **A MI MADRE:**

***Manuela Martínez Yupan***

*Por brindarme su apoyo incondicional, por el esfuerzo invaluable en darme una carrera, por cada uno de sus consejos y por el inmenso amor que me demuestra guiándome y motivándome para seguir adelante.*

### **A MI HERMANA:**

***Sindy Bulnes Martínez***

*Por la confianza puesta en mí, por su apoyo constante y motivarme siempre a seguir mis metas.*

## RESUMEN

El presente estudio de investigación, de tipo descriptivo, enfoque cuantitativo de corte transversal, se realizó con el objetivo de determinar la capacidad antioxidante y cuantificación de polifenoles de las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla). La procedencia vegetal de las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla) fue del distrito de Cascajal, provincia de Santa, departamento de Ancash. El estudio fue realizado en el laboratorio de investigación de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, los polifenoles fueron extraídos de las hojas secas y pulverizadas a través de extracción exhaustiva utilizando como solvente metanol al 80%, para la cuantificación de polifenoles totales se utilizó el método Folin ciocalteu con estándares de catequina y para la determinación de la capacidad antioxidante se utilizó el método 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) con estándares de Trolox. Los resultados obtenidos de la cuantificación de polifenoles fue de  $46.98 \pm 2.40$  mg eq. en catequina /g de muestra seca, del mismo modo para la capacidad antioxidante el resultado fue de  $419.76 \pm 6.69$  expresados en mM de Trolox eq/g de muestra seca. Así mismo se concluye que las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla) posee capacidad antioxidante y contenido de polifenoles.

**Palabras Claves:** actividad antioxidante, polifenoles, 2,2-difenil-1-picrilhidracilo, Folin ciocalteu, *Ricinus communis* L.

## ABSTRACT

The present research study, of descriptive type, quantitative cross-sectional approach, was carried out with the objective of determining the antioxidant capacity and quantification of polyphenols of the leaves of *Ricinus communis* L. (Higuerilla). The vegetable origin of the leaves of *Ricinus communis* L. (Higuerilla) was from the district of Cascajal, province of Santa, department of Ancash. The study was carried out in the research laboratory of the Los Angeles de Chimbote Catholic University, the polyphenols were extracted from the dried leaves and pulverized through exhaustive extraction using 80% methanol as a solvent, for the quantification of total polyphenols the Folin ciocalteu method with catechin standards and for the determination of antioxidant capacity the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) method with Trolox standards was used. The results obtained from the quantification of polyphenols was  $46.98 \pm 2.40$  mg eq. in catechin / g of dry sample, in the same way for the antioxidant capacity the result was  $419.76 \pm 6.69$  expressed in mM of Trolox eq / g of dry sample. It is also concluded that the leaves of *Ricinus communis* L. (Higuerilla) has antioxidant capacity and polyphenol content.

**Key words:** antioxidant activity, polyphenols, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil, Folin ciocalteu, *Ricinus communis* L.

## CONTENIDO

<b>Equipo de trabajo</b> .....	ii
<b>Jurado evaluador de trabajo de investigación</b> .....	iii
<b>Agradecimiento</b> .....	iv
<b>Dedicatoria</b> .....	v
<b>Resumen</b> .....	vi
<b>Abstract</b> .....	vii
<b>I. Introducción</b> .....	1
<b>II. Revisión de la literatura</b> .....	3
<b>III. Hipótesis</b> .....	9
<b>IV. Metodología y Materiales</b>	
4.1.Diseño de la investigación.....	10
4.2.Población y muestra .....	10
4.3.Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	11
4.4.Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	12
4.5.Plan de análisis.....	14
4.6.Matriz de consistencia.....	15
4.7.Principios Éticos.....	16
<b>V. Resultados</b>	
5.1.Resultados.....	17
5.2.Análisis de resultados.....	18
<b>VI. Conclusiones</b> .....	20
<b>Referencias Bibliográficas</b> .....	21
<b>Anexos</b> .....	27



## **INDICE DE GRAFICOS**

<b>GRAFICO 1:</b> Curva de Calibración de Polifenoles Totales.....	<b>26</b>
<b>GRAFICO 2:</b> Curva de Calibración de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo.....	<b>26</b>

## I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales existen y vienen acompañando al ser humano desde la antigüedad, existiendo diferentes culturas las cuales han desarrollado su propia flora medicinal, esta práctica generalmente fue transmitida por tradición oral brindando conocimientos de usos caseros <sup>(1)</sup>.

Se afirma que el uso de las plantas medicinales surgió casi con la vida humana, estos ensayos médicos se fue innovando de generación en generación, el cual evoluciono con el empleo del microscopio y el principio de ciencias como la fitoquímica y diversas técnicas de análisis instrumental, conociendo de esta manera los principios activos de las plantas medicinales siendo aceptado como principal soporte de la salud. Se ha demostrado que la medicina a base de plantas es relativamente segura en cuanto a sus efectos secundarios siempre que se trate en cualquiera de sus preparaciones con una dosis indicada o que sea prescrita por profesionales <sup>(2)</sup>.

El Perú posee una enorme variedad de plantas medicinales, según el Ministerio de agricultura y Riego, existen 4400 especies de plantas oriundas de usos conocidos y 1,300 plantas medicinales de las cuales 890 especies derivan de la amazonia <sup>(3)</sup>.

Los estudios constantes acerca de la capacidad antioxidante de las plantas medicinales se han incrementado en las últimas décadas, esto se debe a los distintos metabolitos secundarios obtenidos de estas, las cuales tienen efecto antioxidante, ayudando a retardar y en muchos casos a inhibir la oxidación de otras moléculas impidiendo el inicio o proliferación de las reacciones en cadena de los llamados radicales libres <sup>(4)</sup>.

El *Ricinus communis* L. Es una planta medicinal que crece en estado silvestre, utilizado frecuentemente por la población para bajar la fiebre, cólicos e inflamación. La aplicación más común de esta especie es en forma de cataplasma y baños. Sus diversos efectos de esta planta se deben a la presencia de metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides e Isoquercitrina la cual le da la capacidad antioxidante <sup>(5)</sup>.

Por este motivo existe evidencia que demuestra que los flavonoides y los ácidos fenólicos se han establecido como principales sustancias antioxidantes por ser capaces de captar radicales libres <sup>(6)</sup>.

Por todo lo expuesto, el presente trabajo de investigación busca demostrar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles obtenidos de las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla), así mismo canalizar la posibilidad de su utilización en la prevención de enfermedades que son generadas por radicales libres, de esta manera contribuye a fomentar estudios futuros en base a esta planta.

Mediante el presente estudio se desea investigar la capacidad antioxidante y cuantificación de polifenoles de las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla), utilizando las hojas por su alto contenido de metabolitos secundarios. Para la presente investigación se hizo la siguiente pregunta ¿Tendrá Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla)?

**Objetivo general:**

Determinar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles de las hojas de *Ricinus communis* L. (HIGUERRILLA).

**Objetivos específicos:**

1. Determinar el contenido de polifenoles en hojas de *Ricinus communis* L. (HIGUERRILLA) expresados en mg eq. en catequina /g de muestra seca.
2. Determinar la capacidad antioxidante en hojas de *Ricinus communis* L. (HIGUERRILLA) expresados en mM de Trolox eq/g de muestra seca.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### Antecedentes

Aguirre et al <sup>(7)</sup>, en el año 2013, realizaron un trabajo monográfico donde su objetivo general fue evaluar la actividad antioxidante 18 especies vegetales a través del ensayo DPPH recolectadas en el departamento de Matagalpa, en la cual una de las especies era el *Ricinus communis*, la parte utilizada fue las hojas del vegetal, el método a utilizar fue DPPH, para lo cual se pesó un aproximado de 0.014234 g del reactivo DPPH, se trabajó con un balón de 100ml y se aforó con Etanol, como diluyente. En conclusión se determinó que las 18 especies vegetales analizadas tienen capacidad antioxidante, el *Ricinus communis* su actividad antioxidante obtuvo un porcentaje de inhibición en sus hojas de 25,3620%

Tovar et al <sup>(8)</sup>, en el año 2014, realizaron una investigación teniendo como objetivo realizar ensayos *in vitro* para la determinación de la actividad antioxidante de las plantas pertenecientes a zonas de la reserva de la Ecoregión Cafetera Colombiana, con el propósito de identificar especies que tengan capacidad antioxidante alta. La parte de la planta a estudiar fueron las hojas y tallos, utilizando 10 especies vegetales (*Euphorbiaceae*), con un control positivo de hidroquinona, La metodología utilizada fue por DPPH, que consiste en mezclar 1 mL de la solución DPPH con 250  $\mu$ L del vegetal el cual se evaluó a 1000  $\mu$ g/mL, posteriormente se agito en la cámara de oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente, para finalmente leer la absorbancia a 517 nm de cada muestra. Teniendo resultado que la mayor capacidad antioxidante se encontró en dos familias *Melastomataceae*, con DPPH: 49,18  $\mu$ g/mL y *Euphorbiaceae* con DPPH: 7,24  $\mu$ g/mL.

Altamirano <sup>(9)</sup>, en el año 2015, realizó un estudio cuyo objetivo fue evaluar la capacidad antioxidante de 4 especies del genero *Crotón* pertenecientes a la familia de *Euphorbiaceae*, utilizando las hojas del vegetal, el método a utilizar fue DPPH, preparándose cada solución en diferentes concentraciones 50ug/ml, 100ug/ml, 150ug/ml, 200ug/ml, adicionalmente se realizó un análisis estadístico del comportamiento de cada vegetal frente a la vitamina C. En conclusión se determinó que las cuatro especies vegetales analizadas tienen elevada capacidad antioxidante frente a la vitamina C que tiene menos capacidad, ya que su porcentaje de inhibición del radical DPPH está desde los 90.87% a 93.71%.

Pérez <sup>(13)</sup>, en el año 2013, en la Universidad Mayor de San Marcos, realizo un estudio fitoquímico de las hojas de *Ricinus communis L.* donde a través de una marcha fotoquímica o screening determino la presencia de los principales grupos químicos constituyentes de esta planta como son los flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, carbohidratos, esteroides y alcaloides.

## **Bases Teóricas De La Investigación**

### **Descripción Taxonómica *Ricinus communis L (Higuerilla)* <sup>(10)</sup>.**

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malpighiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Ricinus*

Nombre científico: *Ricinus communis L*

Nombre común: Higuerilla, palmacrsto, ricino, higuera del diablo.

Empleado: Hojas

### **Descripción Botánica**

La higuerilla es una planta arbustiva de una altura de 1 a 6 metros aproximadamente, el interior del tallo es hueco, es ramificado y sus hojas son de color verde o rojizo, la forma de las hojas son partidas de 5 a 8 segmentos en forma de estrella, con los nervios de color rojizo, mientras que sus bordes tienen dienteillos de tamaño irregular, en el caso de sus flores se encuentran en racimos, y sus frutos son encapsulados y espinosos, que contienen tres semillas lisas aplanadas y jaspeadas <sup>(11)</sup>.

### **Hábitat**

La planta de higuerilla crece en estado silvestre, en climas cálido, semicálido y templado. Con temperaturas de 21 a 27 grados Celsius, es una especie que no resiste las heladas severas o prolongadas, su requerimiento para su suelo debe ser con materia orgánica y buen drenaje, mayormente crece en terrenos abandonados u orillas de ríos, canales, riachuelos que está en algunos casos asociado a bosques tropicales, espinosos, matorrales <sup>(11)</sup>.

## **Composición Química**

Según su descripción de la especie las semillas contienen ricina que es una fitotoxina muy venenosa y ricinina <sup>(12)</sup>.

## **Aplicaciones terapéuticas del *Ricinus communis* L.**

Luego de conocer todos los componentes químicos de la higuera, según las investigaciones el aceite de esta especie se utiliza para combatir trastornos digestivos, dolores estomacales, heridas, inflamaciones, reumatismo y también como purgantes. Sin embargo por contener gran cantidad de ricina que es uno de sus componentes químicos puede ser tóxico si la dosis es aumentada. En forma popular las hojas son empleadas como "cataplasma" para aliviar padecimientos físicos. La raíz tiene propiedades que ayudan a disminuir la fiebre y su preparación se realiza en infusiones, pero no debe ser utilizado en tratamientos prolongados <sup>(13)</sup>.

## **Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos o también llamados polifenoles, son aquellos metabolitos secundarios que son elaborados por algunas plantas, son constituyentes que en su estructura química poseen un anillo aromático el cual se encuentra vinculado a uno o más grupos hidroxilo, incorporando derivados funcionales como son los ésteres, glucósidos. Se determina como compuestos relativamente polares siendo solubles en agua. En su clasificación encontramos los fenoles mono cíclicos, lignanos, quinonas fenólicas, xantonas, ligninas, melaninas y taninos <sup>(14)</sup>.

Los compuestos fenólicos poseen una considerable capacidad antioxidante. Teniendo en cuenta también su actividad biológica el cual es el responsable de darle el efecto preventivo de algunas patologías y el proceso para su capacidad de captar radicales libres que produzca las células del organismo humano, que se dan por efecto de diversos factores ambientales <sup>(15)</sup>.

## **Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos**

Su capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos se encuentra vinculada a su actividad antagonista de metales, inhibe la acción de la enzima lipoxigenasa y atrae radicales libres, y en ocasiones impulsa a que se produzca reacciones de oxidación <sup>(15)</sup>.

Todos los compuestos fenólicos tienen en su estructura química anillos aromáticos con uno o más sustituyentes hidroxilo. Según algunos estudios indican que su estructura química es favorable para captar radicales libres, esto se da por la simplicidad en el cual el átomo de hidrogeno con su grupo hidroxilo aromático dona al radical, y al equilibrio de la estructura dando como resultado un soporte de un electrón desapareado. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos depende mucho de los números y la ubicación de los grupos hidroxilos que abarca toda su estructura química <sup>(16)</sup>.

Para que se determine la clasificación de un compuesto fenólico como antioxidante debe efectuar dos requisitos fundamentales.

- El radical constituido tras la retención sea invariable y no pueda proceder en oxidaciones posteriores.
- Cuando se localice en baja concentración con vínculo al sustrato el cual va a pasar por un proceso de oxidación pueda aplazar o evitar la oxidación o auto oxidación del radical libre <sup>(16)</sup>.

### **Radicales libres**

Se definen como radicales libres o RL a las moléculas que tienen en su estructura atómica un electrón desapareado en su orbital exterior <sup>(17)</sup>.

Esta conformación espacial las hace muy inconstante, excepcional reactivo de vida momentánea, con una mayor capacidad para acoplarse con casi todas las biomoléculas celulares como son los carbohidratos, ácidos nucleicos, proteínas, lípidos y procedentes de cada una de estas biomoléculas, generando un deterioro en las membranas celulares <sup>(17)</sup>.

Las funciones de los radicales libres son cuantiosas y beneficiosas para el organismo (sabiendo también que el mismo organismo elabora cantidades reguladas de radicales libres para combatir infecciones), pero si se da un exceso de fabricación tienen la capacidad de perjudicar nuestras células como también el material genético que se encuentran en ellas <sup>(18)</sup>.

Existen grupos de radicales libres en el organismo como son el radical hidroxilo, superóxido y peróxido de hidrogeno, que a pesar que no tienen el electrón desapareado cuentan con la reactividad considerable para que pertenezcan a este grupo <sup>(18)</sup>.

## **Intermediarios estables relacionados directamente con los radicales libres del oxígeno**

Se incorpora al conjunto de especies químicas que no son radicales libres, son producidas de aquellas sustancias o producto del metabolismo entre ellas, allí se encuentran el peróxido de hidrogeno, el peroxinitrico, oxígeno singlete, el ácido hipocloroso e hidroperóxidos orgánicos <sup>(16)</sup>.

## **Antioxidantes**

Son aquellas sustancias reconocidas por su capacidad de inhibir o evitan una serie oxidativa, mediante la estabilidad del radical libre o radical generado. Estas sustancias han aparecido como una segunda elección para atacar las faltas asociadas con el estrés oxidativo <sup>(7)</sup>.

Los antioxidantes ayudan a disminuir el inicio de la velocidad oxidativa de aquellos materiales oxidables, Bajo algunas restricciones fisiológicas, nuestro organismo puede obviar el perjuicio generado por las especies oxidativas, a través de los diferentes procesos de protección que intervienen al aumentar los niveles intracelulares de protección antioxidantes <sup>(9)</sup>.

## **Características de los antioxidantes**

Los antioxidantes son aquellas moléculas que poseen la capacidad de oxidarse de manera rápida por lo que retarda o detiene que se genere una cadena oxidativa, dando de esta manera estabilidad al radical y como resultado la regeneración del antioxidante radicalario reduciendo el daño oxidativo en el organismo <sup>(19)</sup>.

## **Cuantificación de Compuestos Fenólicos**

Desde el punto de vista químico, los compuestos fenólicos se determinan por tener al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos unidos. Se ha establecido que más de 8.000 estructuras fenólicas que se localizan consideradamente repartidas en el reino vegetal de bajo peso molecular con un único anillo aromático y complejos como los taninos y los producidos poli fenólicos <sup>(20, 21)</sup>.

## **DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)**

Es muy utilizado como sustrato para determinar la actividad antioxidante de los compuestos para que sea captado los radicales libres. El método está fundamentado



reducir el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) en la 2,2-difenil-1-picril hidrazina por la actividad antioxidante de compuestos que contienen grupos. Es muy renombrado como un radical libre estable adecuado a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. Cuando la solución de DPPH mejora con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno <sup>(22)</sup>.

### **Determinación de polifenoles por el método Folin Ciocalteu**

Entre los diferentes métodos para realizar la medición de polifenoles tenemos el método Folin Ciocalteu, el cual es uno de los métodos más antiguos, que consiste en la mezcla de tungstato y molibdato presentes en un medio básico, los polifenoles se oxidan de manera rápida en este medio reaccionando con molibdato generando óxido de molibdeno, el cual puede ser cuantificado e identificado por espectroscopia ya que se absorbe a una longitud de 750nm <sup>(19)</sup>.

### **III. HIPOTESIS**

- Hipótesis Implícita

#### **IV. METODOLOGIA**

##### **4.1. Diseño de investigación**

El presente trabajo de investigación pertenece a un estudio descriptivo cuantitativo.

##### **4.2. Población y muestra**

**Población:** Conjunto de hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla), recolectadas en el mes de Octubre en el distrito de Cascajal, provincia del santa, departamento de Ancash, las cuales fueron seleccionadas, desinfectadas y secadas en el laboratorio de investigación de la Universidad Uladech Católica los Ángeles de Chimbote

**Muestra vegetal:** Se empleó 0.25g de las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla).

### 4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
Capacidad antioxidante del Extracto de las hojas de <i>Ricinus communis</i> L. (Higuerilla)	Es una sustancia que al localizarse en concentraciones de niveles bajos en presencia de un sustrato oxidable, esta ayuda a retardar la oxidación de la misma	Se desarrolló la investigación a través del método DPPH según su capacidad de inhibición o secuestro de radicales libres, de acuerdo a la lectura en el espectrofotómetro UV/VIS.	mM de Trolox eq/g muestra seca
Contenido de polifenoles de las hojas de <i>Ricinus communis</i> L. (Higuerilla)	Conjunto heterogéneo de moléculas que se caracterizan por compartir en su estructura muchos grupos bencénicos los cuales se encuentran sustituidos por funciones hidroxílicas	Se utilizó el reactivo Folin Ciocalteo, según los valores determinados de absorción a través del espectrofotómetro UV/VIS	mg eq. en catequina /g de muestra seca.

#### 4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

- ✓ Se utilizó la observación directa, medición y registro de las lecturas en el espectrofotómetro. Los datos recluidos son registrados en fichas de recolección de datos.

##### **Obtención de la droga vegetal**

Se recolecto 1 Kg de las hojas de *Ricinus communis* L. en las orillas del rio en el distrito de Cascajal, Provincia de Santa departamento de Ancash que se encuentra a 144 m.s.n.m, en el mes de Octubre. Posteriormente el ejemplar completo del vegetal se llevó al Herbarium Truxillense (HUT) en la ciudad de Trujillo para su identificación y su verificación taxonómica, registrándose con el código (60286).

El estudio se realizó con las hojas de la planta *Ricinus communis* L. (Higuerilla).

##### **Preparación de la muestra**

- **Selección:** Las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla) recolectadas se llevaron al laboratorio de investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, donde se seleccionó las hojas en buen estado y se fue eliminando las sustancias extrañas encontradas, teniendo finalmente las hojas en buenas condiciones.
- **Lavado:** Las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla) una vez seleccionadas fueron lavadas con agua potable a chorro y luego con agua destilada.
- **Secado:** Las hojas fueron secadas en estufa del laboratorio de investigación a 45°C durante 4 horas, posteriormente se pulverizo utilizando un molino de aspas y se almaceno a 4°C, se utilizó 0.25g de la muestra seca y pulverizada de las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla).

##### **Preparación del extracto metanólico al 80 % (extracción exhaustiva)**

Para realizar la extracción exhaustiva, se utilizó la muestra seca y pulverizada, se pesó 0.25g, se colocó en un tubo falcón (50 mL) agregando 10 mL del solvente metanol (80% +0.1% de ácido fórmico), para poder extraer los polifenoles ácidos en su mismo medio, se colocó en el agitador magnético por un tiempo de 30 min cubriéndolo con papel metálico para evitar que los rayos de la luz puedan destruir o degradar a los

polifenoles ya que estos pueden ser fotosensibles, pasado el tiempo se llevó a la centrifuga por 5 min a 6000 rpm, se separa el sobrenadante y se coloca en una fiola de 50 mL, el cual estuvo envuelto con una capa de papel aluminio, con el residuo se agrega nuevamente 15mL de solvente y se repite el procedimiento 3 veces, finalmente se guardó en congelador hasta el momento del análisis respectivo <sup>(24)</sup>.

#### **Determinación de polifenoles totales mediante el método de folin ciocalteu**

En una fiola de 10 mL se agregó 2.5 mL de agua destilada tipo II, seguidamente se añadió el estándar de catequina a concentraciones de (0.5; 1; 2; 5 ppm (mg/L)), 100µL del extracto metanólico obtenido en la extracción exhaustiva y 500 µL de reactivo (Folin) para llevarlo a oscuridad por un tiempo de 15 minutos, pasado el tiempo se incorporó sodio carbonato al 10 % y se afora con agua destilada, luego finalmente se lleva al espectrofotómetro a 700 nanómetros para su lectura correspondiente, el cual nos da la absorbancia <sup>(24)</sup>.

#### **Determinación de la capacidad antioxidante según el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo)**

En una cubeta de cuarzo se agregó 1450µL de DPPH a 0.06 mM se llevó al espectrofotómetro para la lectura a una longitud de onda de 515 nm para conseguir la absorbancia a tiempo cero, así mismo se adiciona 50 µL del extracto de *Ricinus communis* L. llevándolo a oscuridad por un tiempo de 15 min, realizando la lectura para obtener la absorbancia a un tiempo de 15 min.

Para el procedimiento se preparó estándares de Trolox con concentraciones de 0.05; 0.1; 0.2; 0.4; 0.8 mM, para enfrenarlo con la solución de DPPH y así obtener la curva de calibración. <sup>(23,24)</sup>.

Fórmula a utilizar para determinar el % de Inhibición:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{DPPH } t_0 - \text{DPPH } t_{15}}{\text{DPPH } t_0} \times 100$$

#### **4.5. Plan de análisis**

- ✓ Los resultados se presentaron con datos de medida: desviación de estándar, promedio en Microsoft Excel

#### 4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	TIPO DE INVESTIGACIÓN	POBLACIÓN Y MUESTRA
Capacidad antioxidante y cuantificación de polifenoles de las hojas de <i>Ricinus communis</i> L. (Higuerilla)	¿Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles las hojas de <i>Ricinus communis</i> L. (Higuerilla)?	<p><b>Objetivo General:</b> Determinar la Capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles de las hojas de <i>Ricinus communis</i> L. (Higuerilla)</p> <p><b>Objetivo Específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Determinar el contenido de polifenoles en hojas de <i>Ricinus communis</i> L. (Higuerilla) expresados en mg eq. en catequina /g de muestra seca.</li> <li>✓ Determinar la capacidad antioxidante en hojas de <i>Ricinus communis</i> L. (Higuerilla) expresados en mM de Trolox eq/g de muestra seca.</li> </ul>	Implícita	<p>Capacidad antioxidante en hojas de <i>Ricinus communis</i> L.</p> <p>Contenido de polifenoles en hojas de <i>Ricinus communis</i> L.</p>	Descriptivo, cuantitativo de corte transversal.	<p><b>Población vegetal:</b> Conjunto de hojas de <i>Ricinus communis</i> L.(Higuerilla)</p> <p><b>Muestra vegetal:</b> Se emplearon 0.25g de las hojas de <i>Ricinus communis</i> L. (Higuerilla)</p>



#### **4.7. PRINCIPIOS ÉTICOS**

Según lo indicado en el código de ética para la investigación aprobado por acuerdo del Consejo Universitario Uladech Católica, con la versión 002, el cual indica en unos de sus principios sobre el cuidado del medio ambiente y la biodiversidad, las medidas para evitar el daño al medio ambiente, plantas y animales, respetando la dignidad y el cuidado por encima de cualquier fin científico.

## V. RESULTADOS

### 5.1. Resultados

**Tabla 1:**

Contenido de polifenoles en hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla) expresados en mg eq. en catequina /g de muestra seca.

<b>Muestra</b>	<b>mg eq. en catequina /g de muestra seca</b>
Hoja de <i>Ricinus communis</i> L. (Higuerilla) (n=3)	46.98 ± 2.40

**Tabla 2:**

Capacidad antioxidante en hojas de *Ricinus communis* L. (HIGUERRILLA) expresados en mM de Trolox eq/g de muestra seca.

<b>Muestra</b>	<b>DPPH (mM Trolox eq/g de muestra seca)</b>
Hoja de <i>Ricinus communis</i> L. (Higuerilla) (n=3)	419.76 ± 6.69

% Inhibición: 32.28 %

## 5.2. Análisis de Resultados

En el presente trabajo de investigación se pretendió determinar la capacidad antioxidante y la cuantificación de polifenoles de las hojas de *Ricinus communis* L (Higuerilla), lo cual se pudo determinar al apreciar los resultados obtenidos.

La precisión de los polifenoles totales de las hojas de *Ricinus communis* L se elaboró mediante el ensayo Folin – Ciocalteu el cual actúa calculando la cantidad de sustancia analizada que se requiere para inhibir la oxidación del reactivo reaccionando los compuestos fenólicos surgiendo una coloración de un tono azul.

Es probable que el contenido de polifenoles se deba a la presencia de metabolitos secundarios (flavonoides y compuestos fenólicos) según el estudio fitoquímico de Pérez, que se realizó en el año 2013, en la Universidad Mayor de San Marcos, quien realizó en su investigación una marcha fitoquímica empleando un extracto etanólico de las hojas de *Ricinus communis* L. demostrando dichos metabolitos presentes en la planta (13).

En la **Tabla 1**, se analiza el contenido de polifenoles totales de las hojas de *Ricinus communis* L. Dando como resultados una media y desviación estándar de  $46.98 \pm 2.40$  mg eq. en catequina /g de muestra seca, determinando que los compuestos fenólicos presentes en la muestra evolucionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu a un pH básico otorgando una coloración azul, estos resultados fueron mayores a los obtenidos por Valenzuela, en el año 2014, quien reportó su contenido fenólico de 6.34 mg equivalente de ácido gálico/g de muestra seca de las hojas de chaya la cual pertenece a la misma familia del *Ricinus communis* L, estos valores difieren por la obtención del extracto que se realizó por infusión a 90°C en comparación con la extracción exhaustiva con metanol al 80% (14).

Los antioxidantes constituyen a un grupo importante de sustancias que, retrasan o inhiben los procesos oxidativos, a través de ciertos mecanismos de reacción los cuales lo llevan a su propia oxidación. En nuestro organismo existen diversas células que se renuevan constantemente con el tiempo, la formación de radicales libres en exceso ocasionan alteraciones a nivel genético, generando el riesgo de padecer enfermedades

degenerativas que disminuye la funcionalidad de las células desencadenando el envejecimiento de estas <sup>(6)</sup>.

En la **Tabla 2**, se observa la evaluación de la capacidad antioxidante de las hojas de *Ricinus communis* L (Higuerilla) en extracto exhaustivo dio como resultado una media y desviación estándar de  $419.76 \pm 6.69$  mM de Trolox eq/g de muestra seca, con un porcentaje de inhibición de 32.28%, comprobando que esta especie tiene efecto antioxidante, determinándose con el método DPPH, así mismo en un estudio de investigación, realizado el año 2013, en la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, se determinó la actividad antioxidante de 18 especies vegetales, una de estas fue el *Ricinus communis* L, obteniendo como resultado de porcentaje de inhibición de 25,36%, el cual difiere con el primer resultado por el método de extracción utilizado siendo la parte investigada las hojas, las cuales presentan mayor concentración de compuestos fenólicos concediéndole diferentes actividades biológicas por lo tanto, puede establecerse como una fuente potencial de antioxidante natural <sup>(7)</sup>.

Valenzuela, reporto su capacidad antioxidante de su investigación de las hojas de chaya perteneciente a la misma familia del *Ricinus communis* L, de 1.1 mM de Trolox eq/g de base seca estos valores se diferencian por la preparación del extracto, el cual se hizo por el método de decocción en comparación con la extracción exhaustiva con metanol el cual presenta mayor cantidad de extracción en cuanto a sus resultados <sup>(14)</sup>.

## VI. CONCLUSIONES

1. El contenido de polifenoles en hojas de *Ricinus communis* L. (HIGUERRILLA) fue de  $46.98 \pm 2.40$  mg eq. en catequina /g de muestra seca.
2. La capacidad antioxidante en hojas de *Ricinus communis* L. (HIGUERRILLA) fue de  $419.76 \pm 6.69$  expresados en mM de Trolox eq/g de muestra seca.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salaverry J. Florística de algunas plantas medicinales [internet]. Perú: Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública; 2014; 31(1):165-8 [Citado 26 Abril 2019]. Disponible en: [https://www.scielosp.org/article/ssm/content/rw/?resource\\_ssm\\_path=/media/assets/rpmesp/v31n1/a25v31n1.pdf](https://www.scielosp.org/article/ssm/content/rw/?resource_ssm_path=/media/assets/rpmesp/v31n1/a25v31n1.pdf)
2. Fonnegra R y Jiménez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia [internet]. Colombia: Universidad de Antioquia; 2007. Capítulo 1, Introducción. [Citado 26 Abril 2019]. Disponible de: <https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=K8eI7ZeFpsC&oi=fnd&pg=PR11&dq=porque+usar+plantas+medicinales&ots=6Et5w9qR8u&sig=yOiBxvEoz6WgAJjcr2Qx3oMQGk4#v=onepage&q=porque%20usar%20plantas%20medicinales&f=false>
3. MINAGRI. Generalidades [internet]. Perú; 2019. [Citado 26 Abril 2019]. Disponible de: <http://minagri.gob.pe/portal/objetivos/47-sector-agrario/recurso-biodiversidad/347-diversidad-genetica>
4. Rivas M, Oranday M. y Verde M. Investigación en plantas de importancia médica [internet]. México: Omni-science; 2016. Capítulo 2, Actividad antioxidante y toxicidad. [Citado 26 Abril 2019]. Disponible de: <https://books.google.com.pe/books?id=8kgcDQAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=capacidad+antioxidante+en+plantas&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjBxuCNIPHhAhUFqlkKHajEAgEQ6AEIKzAB#v=onepage&q=capacidad%20antioxidante%20en%20plantas&f=false>
5. Salas I. Plantas Medicinales De Uso Tópico del Estado de Veracruz con Potencial para Agronegocios. [Tesis]. México. Universidad Veracruzana. 2015 [En línea] Disponible en: [https://www.uv.mx/veracruz/uvca366-agronegocios-sustentables/files/2013/12/Hernandez\\_trabajo-practico\\_2015.pdf](https://www.uv.mx/veracruz/uvca366-agronegocios-sustentables/files/2013/12/Hernandez_trabajo-practico_2015.pdf)
6. Zavaleta J, Muñoz A, Blanco T, Alvarado C, Loja B. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos [internet]. Perú:

- Revista Horizonte Medico; 2005; Vol(5):N°2 [Citado 26 Abril 2019].  
Disponible de: <http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizonte-med/article/view/251/262>
7. Aguirre A. Arroliga M. Dalie M. Evaluación de la Actividad Antioxidante en 18 Especies Vegetales a Través del Ensayo DPPH recolectadas en el Departamento de Matagalpa durante el Periodo Marzo- agosto 2013 [Tesis]. NICARAGUA. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León. 2013 [En línea] Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/820/1/226031.pdf>
  8. Tovar J, Mosquera O, Martínez C, y Niño J. Tamizado de plantas de zonas de reserva Risaralda-Colombia con capacidad antioxidante [internet]. Colombia: Revista Tumbaga; 2014; V. 2, N. 10, pp. 21-34 [Citado 26 Abril 2019]. Disponible de: [https://www.researchgate.net/publication/312971732\\_Tamizado\\_de\\_plantas\\_de\\_zonas\\_de\\_reserva\\_Risaralda-](https://www.researchgate.net/publication/312971732_Tamizado_de_plantas_de_zonas_de_reserva_Risaralda-)
  9. Altamirano I. Evaluación de la actividad antioxidante de cuatro especies del género Croton [Tesis]. Ecuador. Universidad Central del Ecuador. 2015 [En línea] Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6320/1/T-UCE-0008-056.pdf>
  10. Pacheco C. Efecto del Extracto Hidroetanolico de Higuierilla Ricinus Communis L. Sobre el adulto del Picudo del Agave Scyphophorus Acupunctatus Gyllenhal. [TESIS]. Mexico. Instituto Politecnico Nacional. 2009 [En línea] Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/8806/166.pdf?sequence=1>
  11. Hernández I. Plantas Medicinales de uso Tópico del Estado De Veracruz con Potencial para Agronegocios. [TESIS]. Mexico. UNIVERSIDAD VERACRUZANA. 2015 [En línea] Disponible en: [https://www.uv.mx/veracruz/uvca366-agronegocios-sustentables/files/2013/12/Hernandez\\_trabajo-practico\\_2015.pdf](https://www.uv.mx/veracruz/uvca366-agronegocios-sustentables/files/2013/12/Hernandez_trabajo-practico_2015.pdf)

12. Carrales R, Marrugo J. Abril J. Rendimientos en semilla y calidad de los aceites del cultivo de Higuierilla (*Ricinus Communis L.*) En El Valle Del Sinú, Departamento De Córdoba [internet]. Colombia: Universidad de Córdoba; 2014. [Citado 26 Abril 2019]. Disponible de: <http://comalfi.com.co/data/documents/Libro-Higuerilla.pdf>
13. Pérez J. Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ricinus communis L.* “higuerilla” [TESIS]. Perú. Universidad Mayor de San Marcos. 2013 [En línea] Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3439/Perez\\_lj.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3439/Perez_lj.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
14. Valenzuela R. Compuestos activos con capacidad hipoglucemiante en *Cnidocolus chayamansa* (Chaya), *Euphorbia prostrata* (Hierba de la Golondrina) y *Jatropha dioica* (Sangre de Drago). [TESIS]. Mexico. Universidad Autónoma de Nuevo León. 2014 [En línea] Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/4076/1/1080253562.pdf>
15. Zuloeta G. Compuestos fenólicos, tocoferoles, ácidos grasos, carotenoides, fitoesteroles y capacidad antioxidante de 16 cultivares de semillas de sacha inchi (*plukenetia volubilis l.*). [TESIS]. Perú. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2014 [En línea] Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2420/Q04-Z8-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Vasquez J. Determinación de la capacidad antioxidante del *Croton draconoides Muell Arg.* (Sangre de grado) de Pucallpa y Tingo María. [Tesis]. Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 2008 [En línea] Disponible en: <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/667/T.FRS-41.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
17. Youngson R. Antioxidantes y radicales libres. [internet]. Madrid: Editorial EDAF; 1994. Capítulo 1, Radicales libres. [Citado 01 Mayo 2019]. Disponible de: <https://books.google.com.pe/books?id=SNthxQBeHkUC&printsec=frontcover&dq=radicales+libres&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi->



8MuriYHiAhUNVd8KHbuHBkMQ6AEILTAB#v=onepage&q=radicales%20libres&f=false

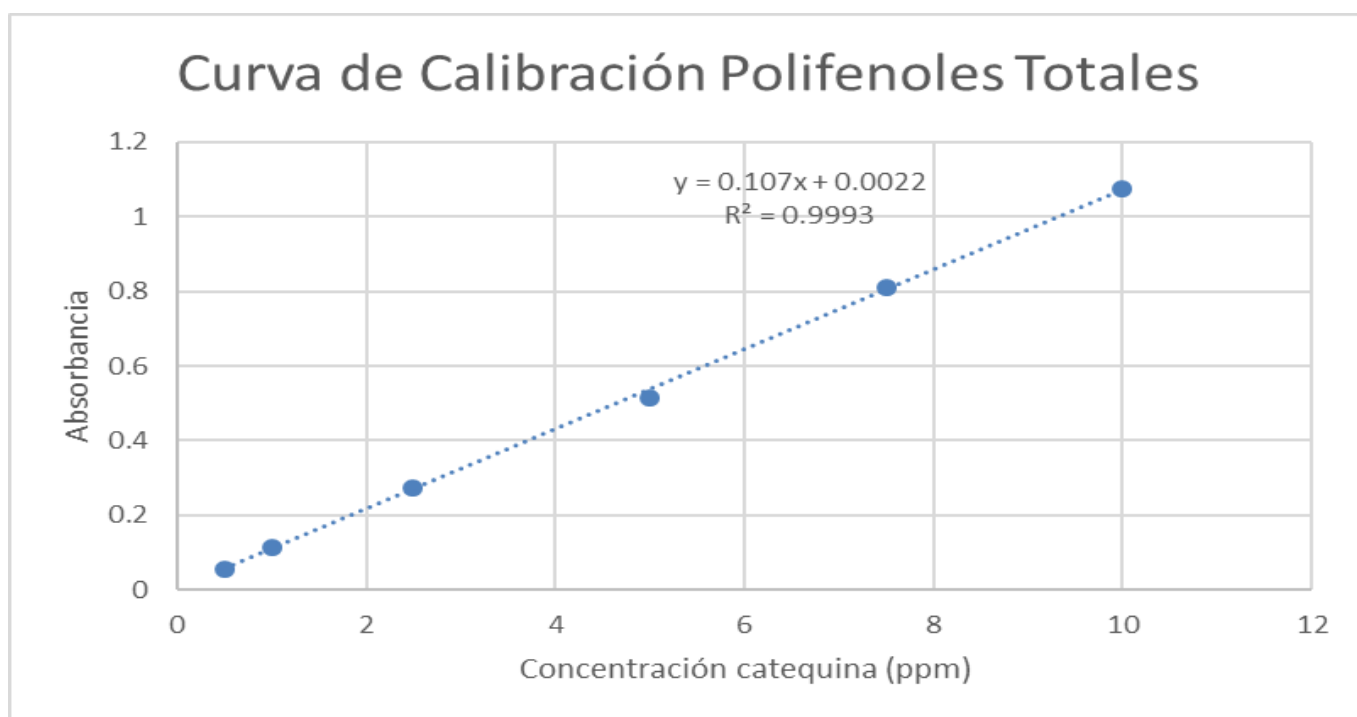
18. Souccar T. La revolución de las vitaminas. [internet]. Barcelona: Editorial Paidotribo; 2001. Capítulo 1, Las bases de la nutrición. [Citado 01 Mayo 2019]. Disponible de: <https://books.google.com.pe/books?id=hicMiOk1ECMC&pg=PA44&dq=radicales+libres&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwixhMuQi4HiAhUqTt8KHVfXBPg4ChDoAQguMAE#v=onepage&q=radicales%20libres&f=false>
19. Aldana C, Guayasamín L. Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (Alcohólico y acuoso) de las hojas de *Ficus citrifolia* y caracterización química de los polifenoles [Tesis]: Ecuador: Universidad politécnica salesiana. 2014. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6011/1/UPS-QT04207.pdf>
20. Medina O, Garzón L, Espinoza W. Efecto del tiempo sobre la cuantificación de polifenoles totales con el reactivo de Folin-Ciocalteu. *Rev. Facultad de Ciencias y Ingeniería* [Internet]; 2016 ,3 (2). [Consultado 30 de junio del 2019] Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/320221008\\_Efecto\\_d\\_el\\_tiempo\\_sobre\\_la\\_cuantificacion\\_de\\_polifenoles\\_totales\\_con\\_el\\_reactivo\\_de\\_Folin-Ciocalteu](https://www.researchgate.net/publication/320221008_Efecto_d_el_tiempo_sobre_la_cuantificacion_de_polifenoles_totales_con_el_reactivo_de_Folin-Ciocalteu)
21. Eusebia K. Capacidad antioxidante y contenido de flavonoides entre las semillas de Chía negra (*salvia nativa*) y Chía blanca (*salvia hispánica L.*) [Tesis]. Perú: Universidad nacional del altiplano facultad de ciencias de la salud escuela profesional de nutrición humana. 2015. Disponible en: [http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2376/Muller\\_Tito\\_Kely\\_Eusebi%20a.pdf?sequence=1](http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2376/Muller_Tito_Kely_Eusebi%20a.pdf?sequence=1)
22. Poggio M. Consumo de antioxidantes naturales en personas con Dislipidemia [Tesis]. Argentina: Universidad abierta latinoamericana .2011. Disponible en: <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112329.pdf>
23. Kuskoski I M, Asuero A, Troncoso A, Mancini J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos

[internet]. Perú: Rev. Soc. Quím; 2005; vol.25, n.4, pp.726-732 [citado 05 de julio del 2016]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>

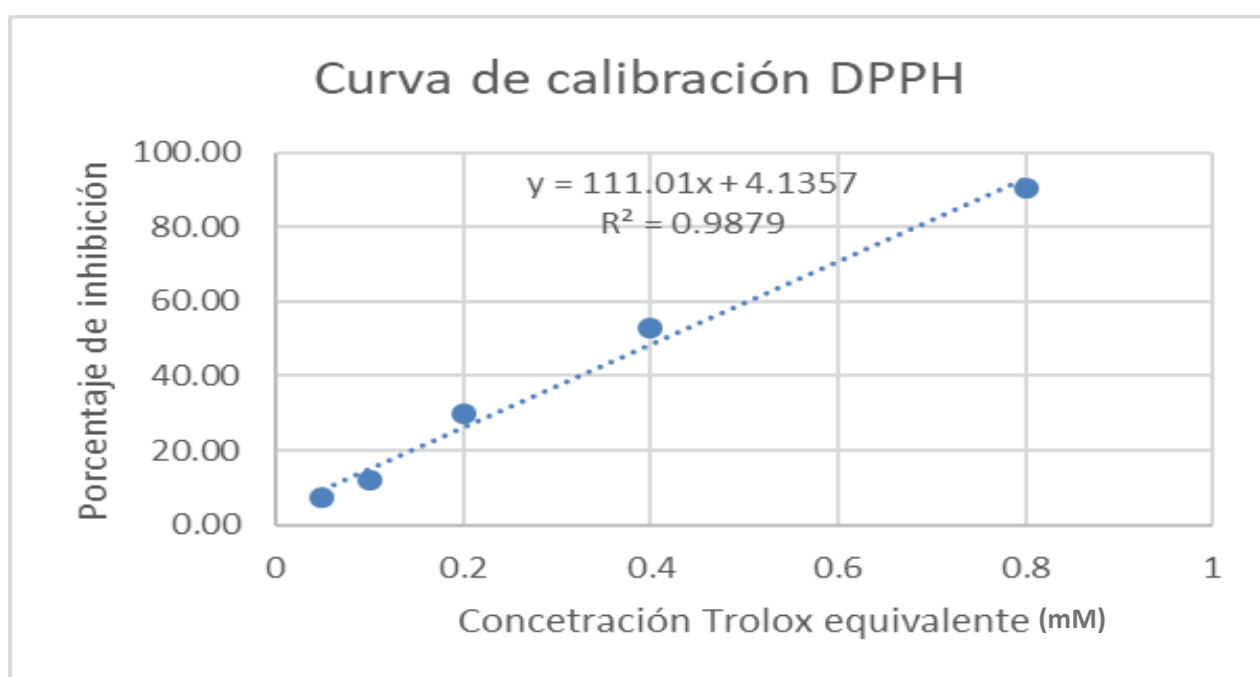
24. Nossa D, Talero V, Rozo W. Determinación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante de los extractos polares de comfrey (*Symphytum officinale* L) [internet]. Colombia: Rev. Cubana de Plantas Medicinales; 2016;21 (2) pp.125-132 [citado 05 de julio del 2019]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v21n2/pla01216.pdf>

## INDICE DE GRAFICOS

### Fotografías de las Curvas de Calibración



**Figura 1:** Curva De Calibración De Polifenoles Totales



**Figura 2:** Curva De Calibración De DPPH

## ANEXOS

### ANEXO 01

#### Fotografía de la Muestra “*Ricinus communis* L.”



## ANEXO 02

### **MATERIALES**

#### **Material Botánico**

Se utilizó las hojas de *Ricinus communis* L. (Higuerilla), recolectadas en el Distrito de Cascajal- Provincia del Santa, departamento de Ancash.

#### **Material de vidrio y plástico:**

- Fiola de 10 mL
- Pipetas
- Matraz
- Tubo falcón (50 mL)
- Cubeta de cuarzo
- Cubeta de cuarzo
- Micropipeta (EPPENDORF)

#### **Reactivos y Solventes:**

- Metanol para cromatografía (MERCK)
- 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

#### **Equipos:**

- Espectrofotómetro 2100
- Balanza Analítica (SARTORIUS)
- Centrifuga Refrigerada (HETTICH)
- Agitador Magnético (BOECO)
- Estufa (BINDER)

### ANEXO 03

Fotografías de la recolección de las hojas de *Ricinus communis* L. en el distrito de Cascajal.



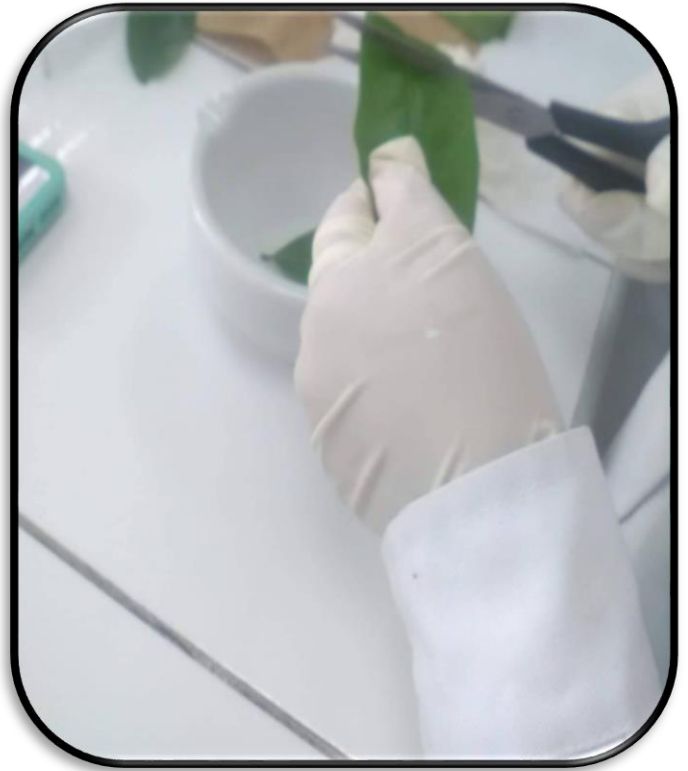
Recolección de las hojas de *Ricinus communis* L. en Cascajal a 144 m.s.n.m

## ANEXO 04

Fotografías del lavado y corte de las hojas de *Ricinus communis* L.



**Figura 1:** Lavado de las Hojas de *Ricinus communis* L.



**Figura 2:** Corte de las Hojas de *Ricinus communis* L.

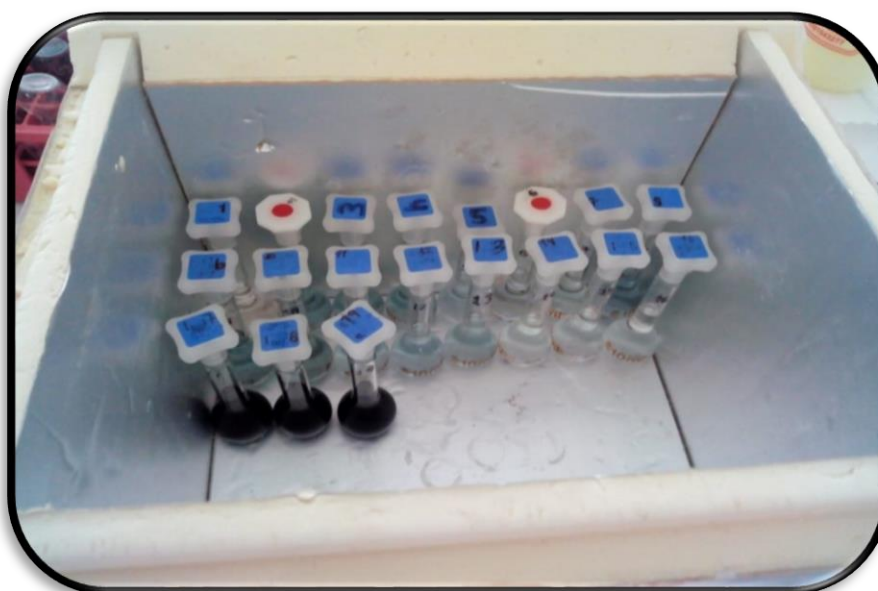


**Figura 3:** Hojas de *Ricinus communis* L.

Fotografías de la preparación del extracto metanólico de las hojas de *Ricinus communis* L.



**Figura 1:** Muestra de las Hojas de *Ricinus communis* L.

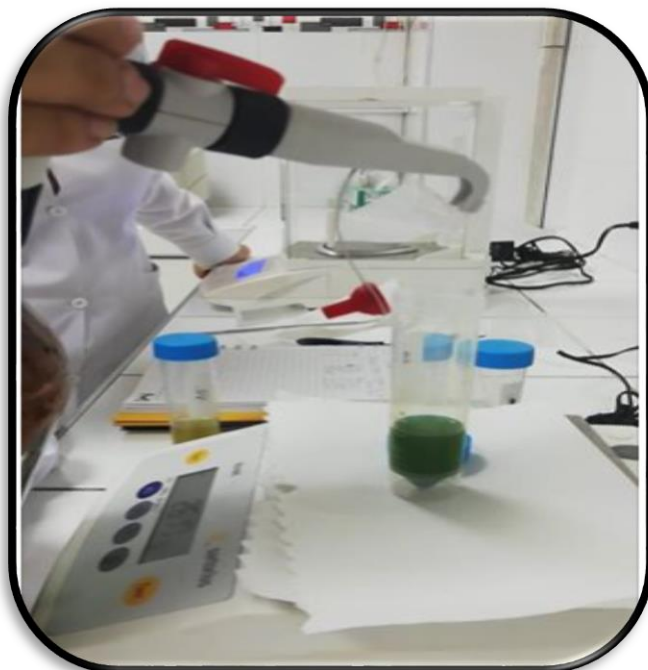


**Figura 2:** Macerado de las Hojas de *Ricinus communis* L.



## ANEXO 05

### Fotografías de la preparación del extracto metanólico AL 80 % (EXTRACCIÓN EXHAUSTIVA)



**Figura 1:** Pesado de la muestra con el solvente metanol.



**Figura 2:** Solvente metanol al 80%.



**Figura 3:** Colocación en el agitador magnético por 30 minutos



**Figura 4:** Colocación en la centrifuga a 6000 rpm